In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful













CHEBAB

METHODES D'ETUDE EN HISTOLOGIE.

1 - GENERALITES.

Le terme histologie signifie étymologiquement « science des tissus ». Le concept de tissu, a été inauguré fin XVII° / début XVIII° par Xavier Bichat ; ce concept a été élaboré partir de dissection anatomiques réalisées à l'œil nu, sans recours au microscope.

Au début du XIXème siècle, le microscope optique est perfectionné et l'optique bénéficie de grandes améliorations. Des lentilles beaucoup plus performantes sont en effet fabriquées, ce qui permet d'obtenir des images beaucoup plus proches de la réalité. C'est à cette époque que les techniques histologiques se mettent en place. L'examen histologique est aujourd'hui souvent assimilé à l'examen microscopique. Au début des années 1960, la création du microscope électronique permet d'améliorer le grandissement et introduit une nouvelle façon de voir les cellules et les tissus.

L'histologie est une discipline de base des sciences biologiques qui a pour objet l'étude des tissus et pour but d'explorer la structure. Elle demeure une science vivante et utile pour tout étudiant en médecine, en chirurgie dentaire et en biologie.

1 – LES TECHNIQUES D'ETUDE EN HISTOLOGIE.

Toute activité histologique a en commun l'action d'observer et d'interpréter ce qui est vu. Dans toute démarche d'ordre histologique, 4 étapes se succèdent : le choix du matériel à étudier, la technique permettant de visualiser les structures que l'on veut étudier, la production d'images de ces structures, par des moyens optiques et l'interprétation de ces images.

Le matériel est prélevé de différentes façons. Les différents types de prélèvements sont :

- Les frottis buccaux (test de Barr et test de l'ADN),
- Les frottis cervico.uterins (dépistage)
- Les ponctions de liquides (pleural, d'ascite, péricardique etc.)
- Les biopsies (prélèvement d'un tissu de petite taille),
- exérèse partielle ou complète au bloc opératoire.

Pour rendre visible ce que l'on veut observer, il est nécessaire de mettre en œuvre des techniques diverses (préparation des échantillons) que l'on applique au matériel. Pour l'observation en microscopie, les coupes examinées sont le fruit de procédures techniques qui requièrent plusieurs étapes successives :

- Fixation,
- Inclusion,

- Coupes,
- Colorations,
- Montage.

La fixation a pour but d'éviter la décomposition post mortem et la digestion tissulaire par les enzymes ou bactéries. Elle préserve l'architecture des tissus.

La condition essentielle est la fixation qui doit se faire le plus vite possible après le prélèvement.

La quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume du tissu à fixer.

Les liquides fixateurs utilisés en histologie pour une observation en :

- microscopie optique sont :
  - le formol (il pénètre rapidement et fixe lentement)
  - le liquide de Boin (formol + acide picrique), il pénètre lentement et fixe rapidement.
- microscopie électronique sont :
  - le glutaraldehyde.
  - l'acide osmique.

Les pièces vont subir par la suite une inclusion. Les milieux d'inclusion en :

- microscopie optique :

Ils ont pour but la réalisation des coupes histologiques. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. La paraffine étant hydrophobe, le prélèvement doit subir une déshydratation par des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99° et 100°). Par la suite le prélèvement doit être immergé dans des bains de toluène (hydrocarbure). Une fois imprégné, le tissu est placé dans de la paraffine fondue à 56/58°C puis mis à l'air libre pour son durcissement.

- microscopie électronique :

On utilise :

- l'araldite.
- l'épon.

Chaque bloc est ensuite coupé. Les coupes de bloc sont réalisées :

- par un microtome qui permet d'obtenir des coupes histologiques en microscopie optique de 2 à 5 µ, recueillit sur des lames de verre.
- par un ultramicrotome qui permet d'obtenir des coupes semi fines en microscopie électronique de 0,5 à 1 µ allant jusqu'à 300 à 600 Armstrong.

Des colorations sont ensuite réalisées sur lames. Ces colorations accentuent les contrastes pour pouvoir reconnaitre les différents éléments du tissu.

Pour utiliser une coloration, la paraffine doit être éliminée. Pour cela on procède par les étapes suivantes :

- déparaffinage (par des bains de toluène),
- réhydratation (par des bains d'alcool de degré décroissant allant de 100° à 70°),
- rinçage à l'eau distillée,

- coloration,
- montage.

Les colorants de routine sont :

- Hématéine (colore les noyaux en violet),
- Eosine (colore le cytoplasme en rose),
- Safran (colore les fibres de collagène en jaune).

Pour l'observation des coupes, étant donné la petitesse extrême de la cellule et le pouvoir séparateur limite de l'œil humain, on utilise :

- Le microscope optique avec un pouvoir séparateur de 0,2 µ,
- Le microscope électronique avec un pouvoir séparateur de 0,2 nm.

Remarque : il faut savoir que le pouvoir séparateur de l'œil humain est de l'ordre de 0,2 mm

Le pouvoir séparateur est définit comme étant la distance minimale qui doit séparer deux points contigües pour qu'ils soient correctement discernés.

Rappelons que l'épaisseur de l'échantillon en :

- microscopie optique est de 2 à 5 µ,
- microscope électronique est de 0,5 à 1 µ allant jusqu'à 300 à 600 Armstrong.

Les différents types de microscopes utilisés sont :

- le microscope optique (microscope photonique) avec la lumière visible,
- le microscope optique à fluorescence avec UV,
- le microscopie électronique à transmission et à balayage (faisceaux d'électrons).

Remarque : Il existe même des microscopes électroniques dont la source est le laser.

Au cours de l'observation microscopique il est intéressant de produire des images de la préparation devenue observable, afin de pouvoir la regarder. La production des images est liée à la mise en œuvre de moyens optiques qui augmentent le pouvoir séparateur de l'œil humain (0,2 mm environ) et permettent d'analyser des structures très petites.

Associée à l'observation au microscope, la photographie et la vidéo permettent de conserver les images. La vidéo permet actuellement d'exploiter au mieux l'information visuelle : l'image peut ainsi être observée, communiquée, mesurée, archivée, éditée. Les signaux, captés par un détecteur, peuvent être transmis à un système informatique pour être analysés, amplifiés et/ou numérisés. La numérisation des images permet leur stockage, leur archivage et leur transmission à distance par ordinateur.

De plus il ne suffit pas d'observer les images produites par les microscopes, encore faut-il les interpréter. L'interprétation donne une signification aux images observées, détecte la présence d'une structure, d'une molécule, d'une fonction chimique et permet de les localiser dans la cellule, le tissu, l'organe ou l'organisme. L'interprétation est basée sur des processus de reconnaissance de formes, de contrastes, de couleurs, souvent combinés de

façon peu dissociable. Parmi les difficultés d'interprétation, les plus élémentaires tiennent aux incidences de coupe et aux artéfacts. En effet les images observées sont situées dans un plan ; elles font partie d'un monde imaginaire à deux dimensions, à partir duquel il faut restituer le monde réel à trois dimensions. Dans certains cas, on oriente le bloc par rapport au plan de coupe, mais le plus souvent les structures sont coupées selon une incidence due au hasard.

Il faut se méfier des artéfacts et images artificielles créées par la technique. Dans une préparation histologique de routine, il peut exister des artéfacts de prélèvement (pinces, ciseaux, coagulation, gelures), de fixation (dessèchement, retard de fixation, fixateur trop ou trop peu concentré), d'inclusion (vides artificiels dus à la rétraction des cellules ou des tissus), de coupe (stries de rasoir, coupes trop épaisses ou trop minces), de collage (décollements, plis et replis de la coupe), de montage (bulles d'air entre la lame et la lamelle), de coloration (empâtements, dépôts, taches de colorant).

Tous les tissus de l'organisme dérivent des trois feuillets embryonnaires primitifs (ectoblaste, endoblaste et mésoblaste). Par exemple l'ectoblaste fournit la peau, les téguments et le système nerveux, l'endoblaste fournit le tube digestif et l'appareil pulmonaire et le mésoblaste fournit les muscles, le squelette, une grande partie de l'appareil urogénital etc. L'évolution des feuillets embryonnaires ne correspond pas à une spécificité tissulaire, et le même type de tissu peut provenir de différents feuillets. Ainsi, les trois feuillets donnent naissance à du tissu épithélial. Le tissu nerveux provient de l'ectoblaste. Les tissus conjonctif et musculaire dérivent presque exclusivement du mésoblaste.

Il est classique de distinguer des tissus qui correspondent à des entités facilement identifiables, nécessaires mais suffisantes, pour constituer l'ensemble des êtres vivants ; les tissu épithéliaux (épithéliums de revêtement et épithéliums glandulaires), les tissus conjonctifs, les tissus cartilagineux et le tissus osseux, le sang, les tissus musculaires (tissus musculaires squelettiques, tissu musculaire myocardique et tissus musculaires lisses) et le tissu nerveux.

Enfin rappelons que deux ou plusieurs tissus en s'associant, avec la participation d'un système vasculaire et nerveux, vont composer les organes.

Les tissus de l'organisme se présentent comme il suit :

Les tissus épithéliaux sont constitués de cellules, ils se divisent en deux groupes principaux :

Les épithéliums de revêtement qui forment un revêtement sur la totalité des surfaces internes et externes de l'organisme. On peut citer certaines variétés d'épithéliums de revêtement tels que les endothéliums, l'épithélium intestinal et l'épiderme.

Les épithéliums glandulaires qui sont constitués par des cellules spécialisées dans la secrétions de produits. Ces derniers peuvent être élaborés par des glandes exocrines qui sont toujours en relation avec la surface de l'organisme ou la lumière d'un organe creux. On peut citer certaines variétés de

glandes exocrines telles que la glande de Brunner du duodénum, les glandes sébacées de la peau et la prostate. Les secrétions hormonales peuvent être élaborées par des glandes endocrines qui les déversent directement dans le sang. Les hormones régulent spécifiquement le fonctionnement des cellules d'organes. C'est le cas de la glande interstitielle du testicule et de la thyroïde.

Le tissu conjonctif réunit une très large variété cellulaire et fibrillaire à côté d'une substance fondamentale de consistance semi solide.

Les échanges métaboliques entre les cellules conjonctives et les capillaires sanguins se font grâce au liquide interstitiel dont une grande partie trouve son origine dans le sang. Les variétés de tissus conjonctifs peuvent être les ligaments, média des grosses artères et graisse primaire.

Le tissu cartilagineux est constitué de cellules, de fibres et d'une substance fondamentale de consistance solide et élastique. Il assure un rôle de soutien. On peut citer le cartilage hyalin qui est le modèle, des pièces osseuses, chez l'embryon et le fœtus.

Le tissu osseux est constitué de cellules, de fibres et de substance fondamentale de consistance solide et rigide. Il forme le squelette et soutient les organes. Parmi les variétés de tissus osseux on peut citer le tissu osseux périostique, le tissu osseux haversien aréolaire et le tissu osseux haversien dense.

Le sang est un tissu constitué d'une solution aqueuse ; le plasma dans lequel baignent des globules et des plaquettes sanguines. Il constitue le milieu intérieur. Le sang assure la nutrition des cellules (plasma), le transport des gaz (globules rouges ou hématies), la défense de l'organisme (globules blancs ou leucocytes) et la coagulation des lésions (plaquettes sanguines).

Les tissus musculaires sont composés de cellules appelées fibres musculaires. Selon leur aspect on distingue trois variétés de tissus musculaires ; le tissu musculaire squelettique, le tissu musculaire myocardique et le tissu musculaire lisse.

Dans le tissu musculaire strié squelettique les contractions sont volontaires, dans le tissu musculaire strié myocardique et lisse, elles sont involontaires.

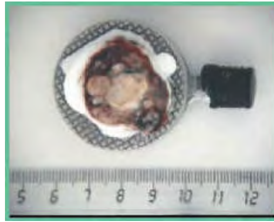
Le tissu nerveux s'organise en un véritable réseau de communication spécialisé dans la perception et le transport de l'influx nerveux. Il constitue le système nerveux. Il regroupe en même temps que des cellules spécifiques appelées, neurones, des cellules nevroglique assurant les rôles de protection, de soutien et de nutrition.

UNIVERSITE D'ALGER - FACULTE DE MEDECINE – DEPARTEMENT DE MEDECINE ZIANIA CHATEAUNEUF.
PREMIERE ANNEE DE MEDECINE ET DE MEDECINE DENTAIRE DE L'ANNEE 2015/2016
MODULE D'HISTOLOGIE : INTRODUCTION A L'HISTOLOGIE.

CHEBAB

		Epithéliums		tissus de soutien	tissus musculaire	tissu nerveux
		de revêtement	glandulaires			
Ectoblaste	Epiblaste	Epiderme	Glandes sudoripares, sébacées et mammaires		Certains muscles lisses et cellules myoépithéliales	Placodes et certains neurones du SNP
	Neurectoblaste		Médullosurrénales		Certains muscles lisses	Tout le SN sauf les placodes
Mésoblaste		Epithéliums de revêtement de l'appareil urogénital, endothéliums et mésothéliums	Corticosurrénales	Fibroblastes, ostéocytes, chondrocytes, adipocytes et populations cellulaires libres	Muscle strié squelettique, muscle strié myocardique et muscle lisses	
Endoblaste		Epithéliums de revêtement de l'appareil digestif et respiratoire	Glandes digestives, foie, pancréas, glandes trachéobronchiques et cellules neuroendocrines			

CHEBAB



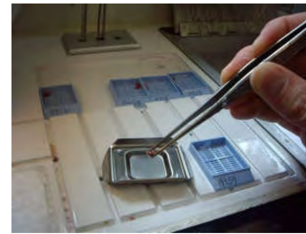
Pièce prélevée.



Fixation.



Pièce



Inclusion



Bloc.



Microtome.



Coupe



Étalement



Séchage



Lames colorées



Montage avec une résine



Tubes de Borel.



Bains, colorants et résine de montage.

UNIVERSITE D'ALGER - FACULTE DE MEDECINE – DEPARTEMENT DE MEDECINE ZIANIA CHATEAUNEUF.
PREMIERE ANNEE DE MEDECINE ET DE MEDECINE DENTAIRE DE L'ANNEE 2015/2016
MODULE D'HISTOLOGIE : INTRODUCTION A L'HISTOLOGIE.

CHEBAB



Automate de deshydratation type caroussel



Unité de coloration



Microscope optique



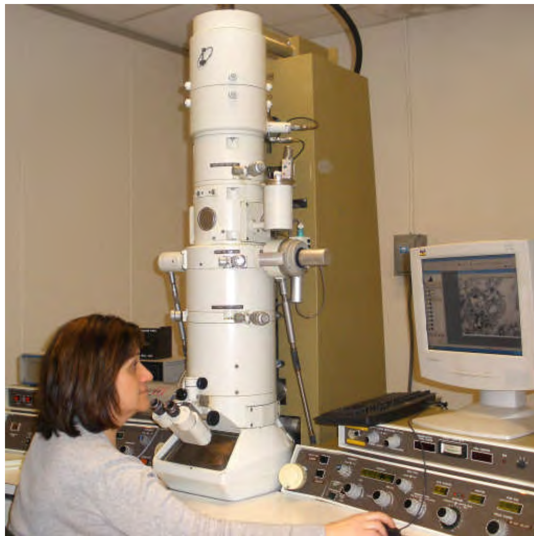
Observation

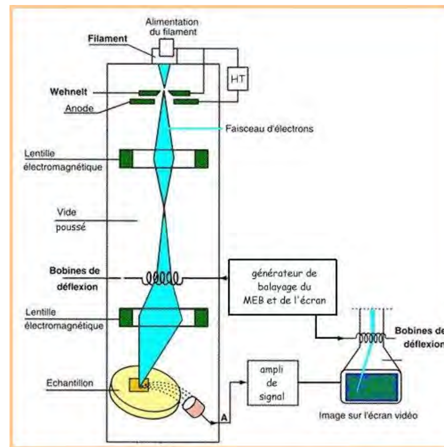


Microscope optique

UNIVERSITE D'ALGER - FACULTE DE MEDECINE – DEPARTEMENT DE MEDECINE ZIANIA CHATEAUNEUF.
PREMIERE ANNEE DE MEDECINE ET DE MEDECINE DENTAIRE DE L'ANNEE 2015/2016
MODULE D'HISTOLOGIE : INTRODUCTION A L'HISTOLOGIE.

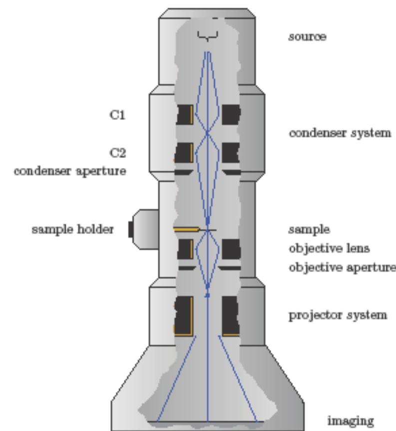
CHEBAB





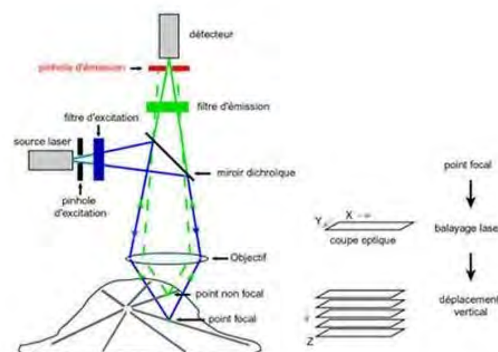
Microscope électronique à balayage





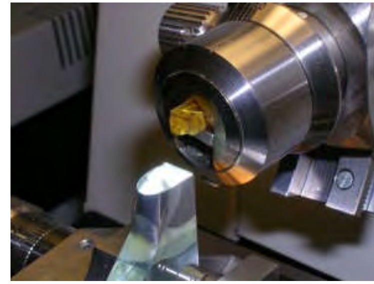
Microscope électronique à transmission





Microscope électronique à laser

UNIVERSITE D'ALGER - FACULTE DE MEDECINE – DEPARTEMENT DE MEDECINE ZIANIA CHATEAUNEUF.
PREMIERE ANNEE DE MEDECINE ET DE MEDECINE DENTAIRE DE L'ANNEE 2015/2016
MODULE D'HISTOLOGIE : INTRODUCTION A L'HISTOLOGIE.
CHEBAB

Ultramicrotome

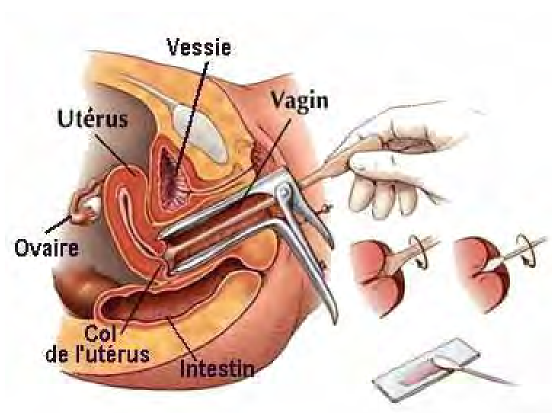




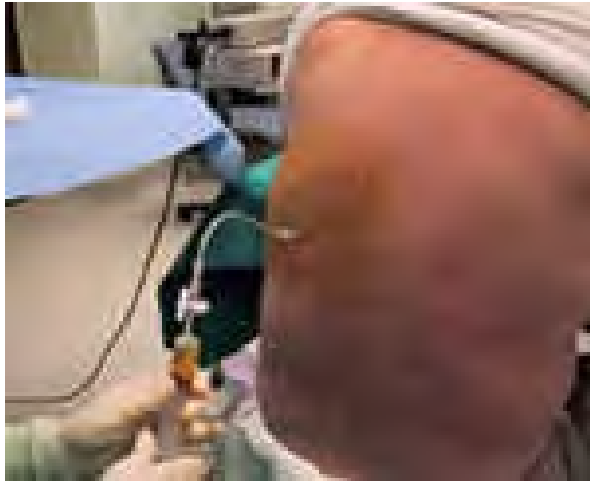
Paraffine

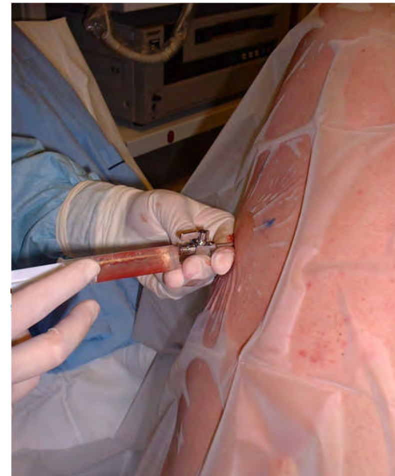


Frottis buccal



Frottis cervico.uterin



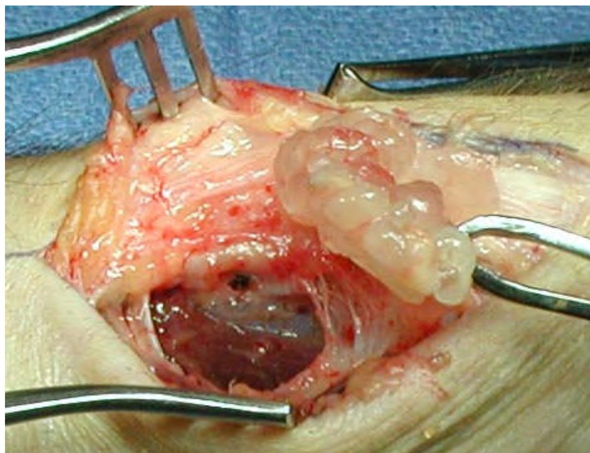


Ponctions





Biopsie

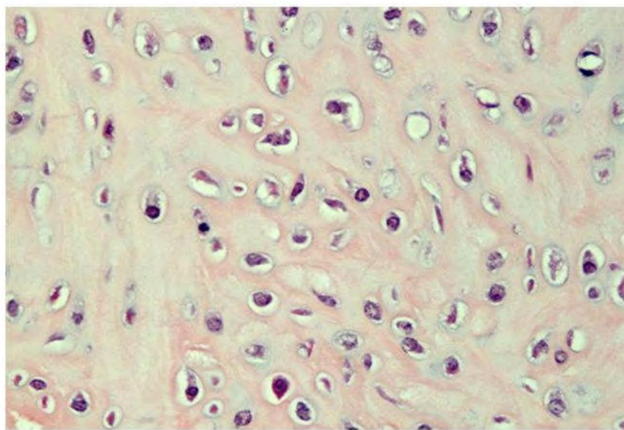


Exérèse





Colorations eosine – hematoxyline



Colorations safran